артриты. Сходная практика комплектования быками головных ГПП допускалась в Новосибирском, Ставропольском, Мордовском, Чувашском ГПП и др. К сожалению, руководители и специалисты многих госплемпредприятий, где имелись больные хламидиозом быки, не проводили анализ положения дел в обслуживаемых хозяйствах и тем самым игнорировали «Инструкцию по организации и технологии работы станций и предприятий по искусственному осеменению с\х животных», утвержденных МСХ СССР от 20 июня 1979 г.

Усложнению эпизоотической обстановки по хламидиозу животных в стране способствовало также несовершенство инструктивных документов, утвержденных ГУВ Госкомпродзага СССР. Так, в «Ветеринарно-санитарных правилах для племенных предприятий (станций) и пунктов искусственного осеменения животных (утв. ГУВ Госкомпродзага СССР 29 декабря 1990г.) и в «Инструкции по профилактике и ликвидации хламидиоза животных» (утв. ГУВ Госпромпродзага СССР 15 апреля 1991г.) не предусмотрено обследование производителей на хламидиоз. Ссылаясь на эти документы большинство ГПП, областные и республиканские ветеринарные лаборатории не проводят обследование быков-производителей на эту болезнь (2). С целью ликвидации и недопущения дальнейшего распространения хламидийной инфекции животных в каждой области и республике, где были зарегистрированы заболевания быков-производителей в ГПП, следует установить строгий ветеринарный контроль за их работой. Необходимо провести комиссионный анализ их деятельности, обратив особое внимание на комплектование быками, методику определения качества спермы, состояние и использование банка спермы. Необходимо провести эпизоотологическое обследование с серологическим исследованием крови животных на хламидиоз во всех племенных организациях - поставщиках племенной продукции, колхозов, фермерских и других хозяйств, куда поступала сперма быков-производителей.

Искусственное осеменение следует рассматривать не только как способ улучшения генетических качеств коров, но и как способ профилактики и борьбы с генитальными инфекциями. Этот метод требует строжайшего соблюдения ветеринарно-санитарных правил. Только такой подход поможет оптимально решить задачи по реализации национального проекта по ускоренному развитию животноводства в нашей стране.

Литература

1. Глотов А.Г., Амироков М.А., Петрова О.Г., Сергеев А.Н. и др. Вирусные заболевания крупного рогатого скота в Сибири и на Урале. Метод.рекомендации, Новосибирск, 2001, 30с.
2. Митрофанов П.М. Инструкция во здравие... инфекций. Ветеринарная газета № 25. 7-20 декабря 1993г.
3. Митрофанов П.М. Инфекционные факторы и проблемы воспроизводства крупного рогатого скота. // Фундаментальные и прикладные проблемы повышения продуктивности с/х животных. Саранск. 1998:46-47.
4. Митрофанов П.М. Семенов В.А. Гомбоев Д.Д. Михайленко В.В. и др. Хламидиоз самцов животных. // Ветеринария 2004, №1:7-10.
5. Митрофанова Л.Н. Митрофанов П.М. Причины низкой воспроизводительной способности коров, больных хламидиозом. //Материалы науч. конф. ЧГСХА, 2005 т XX: 407 - 408.
6. Barlow R.M., Nottleton P. F., Gardiner A.C. et.al. // Vet Rec, 1986 118:321-324.
7. Bolin S.K., Me Clurkin A.W., Coria M.F. // J. Vet Res., 1985, 46: 2385-2387.
8. Chapman M.S., Lucas M.H., Hebert C N. et.al. // Vet. Sc. Communic, 1979,3: 137-139.
9. Kupferschmied H.U.. Kihm U., Bachmann P. et.al. // Therigenology 1986.25:439-443.

УДК: 619:616.155.392 (470.55/.57)

И.С. Пономарева, М.В. Сычева, М.А. Поляков, О.П. Лысенкова
(Оренбургский Государственный аграрный университет)

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ЛЕЙКОЗА КРС ПРИ ОЗДОРОВЛЕНИИ ХОЗЯЙСТВ ОРЕНБУРЖЬЯ

Инфекционная патология хронической этиологии в настоящее время становится наиболее сложной проблемой эпизоотологической науки и практики. Относящийся к ней лейкоз крупного рогатого скота занимает первое место в структуре инфекционной патологии крупного рогатого скота [4]. Например, в России доля лейкоза в структуре инфекционных заболеваний с 1994 по 2002 год возросла с 21,7 до 53%, а

уже в 2006 году составила 62,7% [3]. Инфицированность животных в Оренбургской области порядка 30%. Поэтому представляются актуальными дальнейшие поиски решения эпизоотологических проблем в данной области, которые должны основываться на принципиально новых мировоззрениях и подходах.

Внедрение методов молекулярного анализа радикально расширило возможности изучения патогенеза инфекционных болезней и принципиально усовершенствовало диагностику. В этом плане полимеразная цепная реакция (ПЦР) становится все более распространенным методом, который оптимально сочетает высокую чувствительность и специфичность. В основе метода ПЦР лежит природный процесс – достраивание ДНК матрицы, осуществляемое с помощью фермента ДНК-полимераза. Данный процесс можно использовать для получения копий коротких участков ДНК (ампликонов), специфичных для конкретных микроорганизмов. При многократном повторении циклов синтеза происходит экспоненциальное увеличение числа копий специфического фрагмента ДНК, что позволяет из небольшого количества анализируемого материала, который может содержать единичные клетки микроорганизмов, получить достаточное количество ДНК копий для их идентификации.

Цель настоящего исследования – оценка перспективности применения ПЦР для раннего выявления провируса лейкоза крупного рогатого скота при оздоровлении хозяйств Оренбуржья.

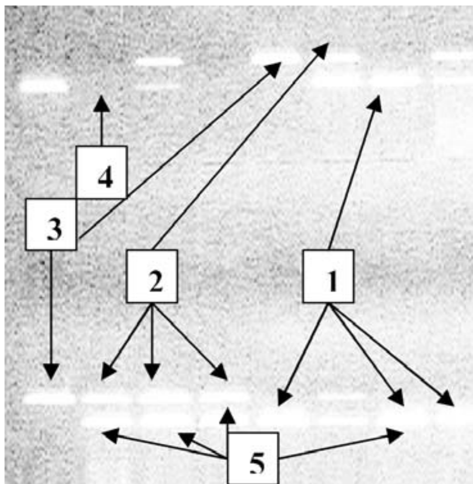


Рисунок 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР: 1 - пробы без вирусоспецифической последовательности; 2 – пробы содержат вирусоспецифическую последовательность; 3 – положительный контроль; 4 – отрицательный контроль; 5 – полосы внутреннего контроля

Материалы и методы

Для проведения мониторинговых исследований использовали годовые отчеты областного ветеринарного управления по инфицированности и заболеваемости крупного рогатого скота лейкозом за период с 1991 по 2006 гг. Под опытом находились телки 4-5 месячного возраста, красной степной породы. Животные принадлежали хозяйству, неблагополучному по лейкозу. Кровь для исследований отбирали одноразовыми инъекционными иглами из яремной вены, стабилизировали 10%-ным раствором трилона-Б. ДНК из крови животных выделяли сорбционным методом. Для проведения полимеразной цепной реакции использовали набор для диагностики лейкоза (ФГУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора, г. Москва, Россия). Учет реакции проводили в агарозном геле. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием пакета программ Stat Plus2008 Professional

Полученные результаты

Проведенные нами мониторинговые исследования инфицированности и заболеваемости крупного рогатого скота в области указывают на увеличение данных показателей. Так, если в 1991 г. инфицированность животных в стаде в среднем по области составляла 7,41%, то к 2006 году рассматриваемый показатель увеличился до 23,6% (33% у коров). Заболеваемость составила 1,9%, при вариабельности за исследуемый период от 1,36% до 2,6%. Корреляционный анализ указывает на наличие прямой положительной связи r=+0,99 между количеством инфицированных и больных коров. Количество неблагополучных пунктов уменьшилось с 68 до 47, за счет полной ликвидации скотоводства в хозяйствах. Вероятно, сложившаяся ситуация обусловлена передержкой инфицированных животных в стаде, несовершенством методов диагностики.

В Оренбургской области с начала восьмидесятых годов в вирусологическом отделе областной ветеринарной лаборатории проводили гематологические исследования проб крови и гистологические исследования патологоанатомического материала от убитых животных. С момента введения серологических методов и до настоящего времени основным методом диагностики остается РИД, несмотря на то, что наблюдаются случаи «выпадения» положительной реакции и получения ложноположительных результатов. Это может быть следствием гиперактивности иммунной системы, спада титров антител и т.д. [1]. Однако РИД является самой простой в исполнении и не зависит от

качества сыворотки. В то время как разрешающая способность тест-систем для ПЦР на два порядка и более превосходит прочие микробиологические и иммунологические методы и аналогична таковой для живых систем (биопроба на естественно восприимчивых животных).

Как показали наши исследования, применение ПЦР позволило обнаружить вирусспецифическую последовательность в ДНК лимфоци-тов у 34,6% животных. На рисунке 1 представлена электрофореграмма продуктов ПЦР. В дорожках всех исследуемых проб имеется полоса внутреннего контроля на уровне 582 п.н. (ген альфа-актина крупного рогатого скота), в дорожках положительных контролей присутствуют специфические полосы на уровне 294 п.н., а отрицательных контролей – отсутствуют.

Положительными являются образцы, имеющие специфическую светящуюся полосу на уровне 294 п.н. большей или меньшей интенсивности.

Гематологические исследования, основанные на выявлении в единице объема крови лимфоидных клеток различной степени зрелости, позволили обнаружить патологию только у 22,2% инфицированных телок от общего числа животных. Исследование сыворотки крови реакцией иммунодиффузии, проведенное специалистами Оренбургской областной ветеринарной лаборатории, показало, что РИД-позитивных животных было на 11,1% меньше, чем при исследовании методом ПЦР. Фактическое несоответствие результатов тестирования в РИД и ПЦР вполне объяснимо целевыми возможностями, технической сущностью этих методов. В соответствии с существующими представлениями диагноз на лейкоз крупного рогатого скота устанавливается на основе РИД-позитивности у животных старше 6 месяцев. Именно к этому возрасту реальный инфекционный процесс достигает максимальной эффективности, результирующейся в интенсивном иммунном ответе и накоплении значительного количества антител, достаточных для выявления в условиях радиальной иммунодиффузии. РИД по своей сущности лишь качественная серологическая реакция, позволяющая осуществлять ретроспективную диагностику per se [2]. Кроме того, с помощью системы на основе РИД исходно не возможны какие-либо выводы относительно трансмиссии и распространения вируса лейкоза в категории животных самого высокого риска – ранее 6-месячного возраста. В то же время ПЦР как высокоразрешающий вариант прямой микробиологической диагностики весьма перспективна для таких целей. Таким образом, потенциальная возможность управления эпизоотическим процессом при лейкозе крупного рогатого скота, заключающаяся в своевременности выявления источника инфекции, возрастает в три раза.

Выводы

1. Показатели интенсивности эпизоотического процесса находятся в стадии подъема.

2. Процент инфицированности крупного рогатого скота в Оренбургской области увеличился за изучаемый период в 4,4 раза, процент больных – в 1,9 раз.

3. Передержка инфицированных животных со здоровыми в стаде способствует распространению вируса.

4. Метод прямого обнаружения провируса лейкоза крупного рогатого скота с помощью ПЦР следует рекомендовать в качестве диагностического теста для выявления инфицированных животных на самых ранних стадиях заболевания (до РИД-позитивности). Это позволит существенно сократить сроки оздоровительных противолейкозных мероприятий.

РЕЗЮМЕ

Лейкоз среди всех нозоформ инфекционной патологии занимает первое место. Поголовье инфицированных коров в области порядка 30%. Потенциальная возможность управления эпизоотическим процессом при лейкозе крупного рогатого скота, заключающаяся в своевременности выявления источника инфекции, требует внедрения современных высокочувствительных специфических методов диагностики, каковым является молекулярно-биологический метод – полимеразная цепная реакция.

SUMMARY

Leucosis takes the first place among all infectious pathology' s nozoforms. The head of infectious line-stock in the region is about 30%. Management s potential possibility of epizootic process at live-stock' s leucosis is in the timeliness of finding out the infection' s source and vequires modern high-sensitive specific diagnostic methods' introduction such as molecular-biological method- polymerize chain reaction.

Литература

1. Гулюкин М.И. Исключить крайности в проведении противоэпизоотических мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота / М.И. Гулюкин // Ветеринарный консультант. – 2005. - № 13-14. – С. 4 - 6.
2. Макаров В.В. ПЦР в диагностике лейкоза крупного рогатого скота / В.В. Макаров, Д.П. Гринишин // Ветеринария. - 2005. - №4. – С. 9-11.
3. Научно-техническая программа «неотложные меры профилактики и борьбы с лейкозом круп-

ного рогатого скота в племенных хозяйствах Российской Федерации». Ветеринарный консультант. №13. – 2003.

4. Смирнов А.М. О проблемах лейкоза крс / А.М. Смирнов // Ветеринарный консультант. – 2005. - № 13-14. – С. 3-4.

УДК: 619:616:089.07

С.В. Тимофеев, С.В. Позябин
(ФГОУ ВПО МГАВМиБ имени К.И. Скрябина)

ПЛАСТИКА СВЯЗОК СЕЛЕЗЕНКИ КАК МЕТОД ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ЗАВОРОТА ЖЕЛУДКА У СОБАК

Заворот желудка у собак - острая хирургическая патология. Основными методами профилактики рецидивов заболевания помимо соблюдения норм кормления и содержания, восстановлении микрофлоры желудка и кишечника служит выполнение гастропексии. Метод заключается в фиксации желудка в брюшной полости за счет создания искусственного анастомоза между стенкой желудка и брюшной стенкой, что предотвращает его перекрут при переполнении пищевыми массами или газами. Множество таких методов нашли применение в практической ветеринарной хирургии. Основные их них - правосторная (в области пилоруса рис. 1-1 или большой кривизны, рис 1-2) правосторонняя паракостальная и транскостальная гастропексия рис.1-3, с помощью линейного разреза, либо путем формирования тканевого лоскута с дальнейшим подшиванием его в карман в забрюшинном пространстве (по методике желудок-брюшина).

Такие методы широко описаны в литературе и подробно останавливаться на их описании не следует. Доказано, что выполнение гастропексии на 50-70% снижает вероятность развития повторного заворота желудка у собак в ближайший и отдаленный послеоперационный период, хотя следует отметить, что гастропексия не снижает риск развития гастроэктазии. Рассматривая гастроэктазию как расширение желудка с накоплением в нем газов, спазм кардиального и пилорического отдела желудка с невозможностью акта рвоты, эта патология является так же достаточно опасной для жизни животного. Однако предложенные методики гастропексии по методике желудок-брюшина имеют ряд существенных недостатков:

1. Излишняя прочность фиксации желудка. При создании анастомоза желудка непосредственно к брюшной стенке образуется жесткая точка фиксации желудка в брюшной полости, которая препятствует активной перистальтике желудка и при неправильно выбранной точке гастропексии приводит к атонии желудка, развитию гастрита. Кроме того, исследования показали, что на месте такой гастропексии часто возникают язвы слизистой оболочки желудка.

2. Несостоятельность анастомоза желудок-брюшина. Практически 20% гастропексий, выполненных по методике желудок-брюшина, не срастаются за счет прорезывания нитей, образования непрочного рубца на месте анастомоза из-за постоянного сокращения желудка и дыхательных движений, чрезмерного растягивания тканей в области шва. Формирование полноценного анастомоза не происходит и в результате сокращений желудка. При его переполнения кормовыми массами происходит разрыв рубца.

3. Высокая вероятность образования абсцесса на месте выполнения анастомоза. При формировании анастомоза желудок-брюшина фиксация желудка обеспечивается путем серозно-мышечного шва, однако при ошибке хирурга и прокола слизистой оболочки желудка может произойти инфицирование нити и попадание микрофлоры в область формирования анастомоза.

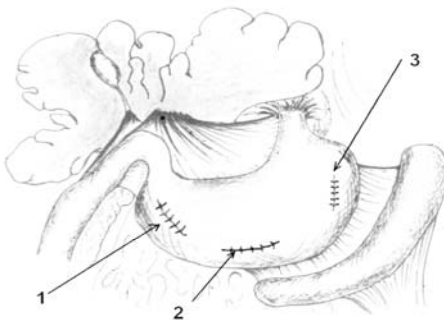


Рисунок 1.Области выполнения гастропексии по типу желудок-брюшина